

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
4. März 2004 (04.03.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/017949 A2(51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61K 31/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/009254

(22) Internationales Anmeldedatum:
21. August 2003 (21.08.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 39 531.4 23. August 2002 (23.08.2002) DE

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: GULBINS, Erich [DE/DE]; Institut für
Molekularbiologie, Universität Essen, Hufelandstrasse 55,
45122 Essen (DE).(74) Anwalt: RUFF, WILHELM, BEIER, DAUSTER &
PARTNER; Kronenstrasse 30, 70174 Stuttgart (DE).(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,
RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-
öffentlichen nach Erhalt des BerichtsZur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: PROPHYLAXIS AND TREATMENT OF INFECTIOUS DISEASES

(54) Bezeichnung: PROPHYLAXE UND THERAPIE VON INFEKTIONSERKRANKUNGEN

(57) Abstract: The invention relates to the use of inhibitors of acid sphingomyelinase and/or inhibitors of products of the reac-
tion catalysed by said enzyme, for the prophylaxis and/or treatment of infectious diseases and/or diseases which are influenced
by infections during the course thereof. The cited products especially include ceramide. Preferably neutralising antibodies and/or
anti-depressants, especially tricyclic and/or tetracyclic anti-depressants, are used as inhibitors.(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft die Verwendung von Hemmstoffen der sauren Sphingomyelinase und/oder von
Hemmstoffen von Produkten der durch dieses Enzym katalysierten Reaktion zur Prophylaxe und/oder Therapie von Infektions-
krankheiten und/oder Krankheiten, deren Verlauf durch Infektionen beeinflusst wird. Bei den genannten Produkten handelt es sich
insbesondere um Ceramid. Als Hemmstoffe sind in besonderer Weise neutralisierende Antikörper und/oder Antidepressiva bevor-
zugt, insbesondere trizyklische und/oder tetrazyklische Antidepressiva.

BEST AVAILABLE COPY

WO 2004/017949 A2

Prophylaxe und Therapie von Infektionserkrankungen

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Wirkstoffen, die
5 zur Prophylaxe und/oder Therapie von Infektionskrankheiten geeignet
sind.

Da Infektionskrankheiten nach wie vor weltweit ein sehr großes medizi-
nisches Problem darstellen, sind Studien zur Behandlung und zur Pro-
10 phylaxe derartiger Erkrankungen schon lange Gegenstand intensiver
Forschung. Beispielsweise werden ständig immense Kosten aufgewen-
det, um neue Antibiotika zu entwickeln. Diese Antibiotika sind notwen-
dig, um Bakterien, Pilze, Protozoen oder Parasiten als Erreger von
Infektionskrankheiten bekämpfen zu können. Insbesondere muß hierbei
15 den sich laufend neu entwickelnden Resistenzen der Erreger Rechnung
getragen werden, was zunehmend problematischer wird.

Eine besondere Schwierigkeit stellt die Behandlung von Infektionskrank-
heiten dar, die durch Viren oder Prionen verursacht sind. Aufgrund eines
20 fehlenden eigenen Stoffwechsels sind diese Erreger nicht mit Antibiotika
angreifbar, so daß im allgemeinen nur eine Behandlung der Symptome
möglich ist.

Um die Prophylaxe und Therapie von Infektionskrankheiten zu verbes-
25 sern und insbesondere den erwähnten Problemen Rechnung zu tragen,
stellt sich die Erfindung die Aufgabe, Wirkstoffe bereitzustellen, die in
besonderer Weise zur Prophylaxe und Therapie von Infektionskrankhei-
ten geeignet sind.

30 Die Aufgabe wird gelöst durch eine Verwendung von Hemmstoffen, wie
sie in den Ansprüchen 1 und 9 beschrieben ist. Bevorzugte Ausführ-
ungsformen sind in den abhängigen Ansprüchen dargestellt. Die An-

sprüche 15 bis 18 betreffen entsprechende pharmazeutische Zusammensetzungen. Der Wortlaut sämtlicher Ansprüche wird hiermit durch Bezugnahme zum Inhalt dieser Beschreibung gemacht.

- 5 Erfindungsgemäß werden zur Prophylaxe und/oder Therapie von Infektionskrankheiten Hemmstoffe der sauren Sphingomyelinase und/oder Hemmstoffe von Produkten, die durch die von der sauren Sphingomyelinase katalysierte Reaktion entstehen, verwendet. Zu diesen Produkten zählt insbesondere Ceramid, welches durch die Spaltung von Sphingolipiden entsteht. Versuche, die zu dieser neuen Verwendung von Hemmstoffen dieser Art geführt haben, zeigten, daß hierdurch die Infektion eukaryotischer Zellen mit verschiedenen pathogenen Organismen, beispielsweise Bakterien, Viren, Pilze und Parasiten, effektiv verhindert werden kann. Neben der Prophylaxe und/oder Therapie von Infektionskrankheiten können die genannten Hemmstoffe auch mit Vorteil zur Prophylaxe und/oder Therapie von Krankheiten eingesetzt werden, deren klinischer Verlauf durch Infektionen zumindest mitbestimmt wird. Ein Beispiel für derartige Krankheiten ist die zystische Fibrose.
- 20 Diese überraschenden Ergebnisse beruhen darauf, daß ceramidreiche Membranplattformen in der Zellmembran von eukaryotischen Zellen für eine Infektion eukaryotischer Zellen mit pathogenen Erregern notwendig sind. Diese größeren Plattformen in der Zellmembran der eukaryotischen Zellen werden durch Fusion von sehr kleinen distinkten Domänen in der Zellmembran, sogenannten Rafts, gebildet. Diese Rafts bestehen aus Cholesterol und Sphingolipiden, insbesondere Sphingomyelin, die sehr fest miteinander assoziieren, wodurch sie sich von den Phospholipiden der Zellmembran trennen und diese kleinen distinkten Domänen bilden. Das in Rafts am häufigsten vorkommende Sphingolipid ist Sphingomyelin, das aus dem sehr hydrophoben Ceramidrest und der hydrophilen Phosphorylcholin-Kopfgruppe besteht. Ceramid ist ein Amidester aus der Sphingoidbase D-erythro-Sphingosin und einer Fettsäure,
- 25
- 30

normalerweise mit einer Kettenlänge von C₁₆ bis C₂₆. Wasserstoffbrücken-Bindungen und hydrophobe van der Waal-Interaktionen zwischen dem Cholesterol-Ringsystem und Sphingolipiden bzw. zwischen den Kopfgruppen der Sphingolipide führen zu einer lateralen Assoziation der Sphingolipide und des Cholesterols in der Zellmembran und einer spontanen Separation von den übrigen Phospholipiden (Brown D.A., London E. (1998). Functions of lipid rafts in biological membranes. Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 14: 111-367; Harder T., Simons K. (1997). Caveolae, DIGs, and the dynamics of sphingolipidcholesterol microdomains. Curr. Opin. Cell. Biol. 9: 534-542). Dadurch entstehen die als Rafts bezeichneten sehr kleinen, distinkten Sphingolipid- und Cholesterol-reichen Membrandomänen. Extrahiert man aus Rafts das Cholesterol, das wahrscheinlich als Spacer zwischen den Sphingolipiden mit ihren relativ grossen Kopfgruppen fungiert, so wird die Struktur und Funktion von Rafts zerstört

Erfindungsgemäß wurde ein Mechanismus identifiziert, der die Bildung von Membranplattformen aus Rafts, das Clustern bzw. Aggregieren von Rezeptoren in diesen Membranplattformen und die Infektion von Zellen mit pathogenen Bakterien und Viren vermittelt. Beispielsweise nach Stimulation über CD95 oder den CD40 Rezeptor, Infektion mit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseriae gonorrhoeae* oder auch Infektion menschlicher Zellen mit Rhinoviren kommt es in Rafts zu einer Freisetzung von Ceramid aus Sphingomyelin. Die Bildung von Ceramid in Rafts führt auf Grund der biophysikalischen Eigenschaften von Ceramid zu einer Fusion kleiner Rafts zu grossen, ceramidreichen Plattformen in der Zellmembran.

Ergebnisse, die zur Erfindung führten, zeigten, daß diese kleinen Rafts durch das Enzym saure Sphingomyelinase und durch Ceramid, das durch die von diesem Enzym katalysierte Reaktion freigesetzt wird, zu den erwähnten größeren Plattformen fusioniert werden.

Eine physiologische Bedeutung dieser Plattformen wurde bereits kürzlich von Grassmé et al. beschrieben (J. Biol. Chem. 276, 20589-20596 (2001); J. Immunol. 168, 298-307 (2002)). Die Autoren konnten zeigen, daß die ceramidreichen Plattformen der Vermittlung von Signalen aus dem Extrazellulärraum in das Zellinnere dienen. Hierbei wird zunächst durch Aktivierung verschiedener Rezeptoren, z. B. CD95 und CD40, eine Translokation des Enzyms saure Sphingomyelinase hin zur Außenseite der Membran induziert. Hier setzt die saure Sphingomyelinase aus Sphingomyelin Ceramid frei, das spontan in Rafts aggregiert. Dadurch kommt es zur Transformation von Rafts in sehr hydrophobe Membranbereiche. Diese Ceramidaggregate zeigen weiterhin die Tendenz, spontan zu größeren Membranplattformen zu fusionieren. In diesen ceramidreichen Membranplattformen aggregieren aktivierte Rezeptoren wie CD95 und CD40, was für die Vermittlung eines Signals über diese Rezeptoren in die Zelle notwendig ist.

Interessanterweise konnte nun im Rahmen der Erfindung gezeigt werden, daß diese Plattformen zusätzlich ein Eindringen von pathogenen Organismen über diese entsprechenden Membranabschnitte ermöglichen. An der Bildung dieser „Eintrittstüren“ für pathogene Organismen in die eukaryotische Zelle ist das Enzym saure Sphingomyelinase entscheidend beteiligt, da Ceramide als Produkte der von diesem Enzym katalysierten Reaktion die Membranplattformen bilden. Ausgelöst wird dieser Vorgang dadurch, daß durch die Erreger über einen bisher noch nicht bekannten Mechanismus die saure Sphingomyelinase dazu veranlaßt wird, in intrazellulären Vesikeln an die Zelloberfläche bzw. in die äußere Seite der Membran transportiert zu werden. Dort wird durch das Enzym der Abbau von Sphingomyelin zu Ceramid in der Membran bewirkt. Diese Bedeutung ceramidreicher Membranplattformen für Infektionen mit pathogenen Bakterien und Viren konnte von den Erfindern insbesondere am Beispiel der Infektion mammalischer Zellen mit *Pseudomonas aeruginosa* gezeigt werden. Die Infektion mammalischer Zellen

mit *P. aeruginosa* aktiviert die saure Sphingomyelinase und induziert damit die Freisetzung von Ceramid.

Eine weitere Aufgabe des Enzyms saure Sphingomyelinase wurde bereits im Zusammenhang mit der Invasion von Gonokokken in eukaryotischen Zellen von Grassmé et al. beschrieben (Cell, Vol. 91, 605-615, 1997). Die Autoren konnten zeigen, daß die saure Sphingomyelinase an einer Signaltransduktionskette in der Wirtszelle beteiligt ist, welche die Invasion eines bestimmten Gonokokken-Stammes vermittelt. Entscheidend sind hierbei bestimmte Oberflächenproteine auf dem bakteriellen Erreger, die sogenannten Opa-Proteine. Diese binden an einen spezifischen Rezeptor der eukaryotischen Wirtszelle, so daß eine Phospholipase C aktiviert und Diacylglycerol gebildet wird. Dieses Diacylglycerol aktiviert wiederum die saure Sphingomyelinase, so daß durch die von diesem Enzym katalysierte Reaktion Ceramid gebildet wird. Diese Signalkaskade konnte jedoch nur durch ganz bestimmte Bakterien bzw. Stämme induziert werden. Insbesondere war die Induzierbarkeit dieser Signalkaskade abhängig von den Opa-Proteinen auf dem Bakterium. Es handelt sich hierbei also um einen völlig anderen, sehr speziellen Mechanismus im Vergleich mit dem im Zusammenhang mit der Erfindung entdeckten generellen Invasions- bzw. Infektionsmechanismus über die besagten Membranplattformen.

Durch die erfindungsgemäße Verhinderung der Ausbildung der Membranplattformen und/oder der Zerstörung bereits gebildeter Membranplattformen wird ein Eindringen der Erreger in die Wirtszelle verhindert. Dies wird im Rahmen der Erfindung vorzugsweise durch die Verwendung von Hemmstoffen der sauren Sphingomyelinase und/oder von Hemmstoffen der Produkte der von diesem Enzym katalysierten Reaktion erreicht. Dies hat gegenüber herkömmlichen Behandlungsmethoden von Infektionskrankheiten den Vorteil, daß sich das Target für den Wirkstoff auf der Wirtszelle, also der zu infizierenden eukaryotischen Zelle,

befindet. Durch die Erfindung wird ein genereller Infektionshemmer zur Verfügung gestellt, der für eine Vielzahl ganz unterschiedlicher pathogener Erreger eingesetzt werden kann (z. B. Bakterien, Viren, Parasiten, Protozoen oder Pilze). Dies ist ein entscheidender Vorteil gegenüber
5 beispielsweise dem Einsatz von Antibiotika, die jeweils ganz spezifisch gegen den zu bekämpfenden Erreger gerichtet sein müssen. Durch die erfindungsgemäße Verwendung wird es nun auch möglich, gegen virale Infektionen vorzugehen, was bisher im allgemeinen in dieser Weise nicht möglich war. Zusätzlich wird durch die erfindungsgemäße Verwen-
10 dung das Problem von sich entwickelnden Resistenzen der pathogenen Erreger umgangen, da der Wirkstoff nicht gegen den Erreger selbst, sondern gegen die von diesem Erreger in der Wirtszelle ausgelösten Reaktionen gerichtet ist.

15 Von der Erfindung werden neben den Hemmstoffen, die direkt die Aktivität der sauren Sphingomyelinase beeinflussen, auch Wirkstoffe umfaßt, die Vorstufen des Enzyms und/oder Aktivierungsmechanismen des Enzyms beeinflussen. Weiterhin können die Wirkstoffe auch auf die Bildung, Stabilisierung, Mobilisierung und/oder Translokation der intrazellu-
20 lären Vesikel wirken, in denen sich das Enzym in der Zelle befindet.

Zudem umfaßt die Erfindung die Verwendung von Hemmstoffen, die die biologische Wirkung der Produkte, die durch die enzymatische Reaktion der sauren Sphingomyelinase entstehen, beeinflussen. Bei diesen Pro-
25 dukten handelt es sich insbesondere um Ceramid, welches einen wesentlichen Bestandteil der Membranplattformen bildet. Von der Erfindung umfaßt sind daher Hemmstoffe, die das Ceramid modifizieren und insbesondere inaktivieren, neutralisieren oder zerstören. Beispielsweise können erfindungsgemäß Stoffe eingesetzt werden, die die Abbaurate
30 von Ceramid erhöhen. Hierbei ist insbesondere das Enzym Ceramid-Glukosyltransferase bevorzugt, das beispielsweise durch molekularbiologische Methoden in seiner Expression verstärkt und damit in seiner

Aktivität verstärkt werden kann und/oder welches durch weitere Regulatoren aktiviert werden kann. Weiterhin können die Hemmstoffe die Zusammenlagerung der Ceramide verhindern, so daß die Plattformbildung beeinträchtigt wird. Zusätzlich umfaßt die Erfindung die Verwendung von

5 Hemmstoffen, die die Funktionsfähigkeit der bereits gebildeten ceramidreichen Membranplattformen beeinflussen und/oder die Bildung der Membranplattformen von vornherein verhindern.

Als erfindungsgemäß geeignete Hemmstoffe kommen eine Vielzahl verschiedener Substanzen in Frage, beispielsweise Peptide, Proteine oder

10 auch anorganische Substanzen. Weiterhin umfaßt die Erfindung auch Nukleinsäuren als Hemmstoffe, sofern sie gemäß der erfindungsgemäßen Verwendung als Hemmstoffe der Sphingomyelinase und/oder derer Reaktionsprodukte wirken. Beispielsweise sind hier Antisense-Moleküle,

15 insbesondere Antisense-Oligonukleotide, oder siRNA der sauren Sphingomyelinase geeignet.

Vorteilhafterweise werden als Hemmstoffe pharmakologische Wirkstoffe eingesetzt, von denen bekannt ist, daß sie das Enzym saure Sphingomyelinase hemmen. Besonders bevorzugt sind hierbei Antidepressiva,

20 insbesondere trizyklische und/oder tetrazyklische Antidepressiva. Trizyklische Antidepressiva können beispielsweise einen proteolytischen Abbau des Enzyms bewirken, so daß das Enzym nicht mehr aktiv sein kann und eine Ceramidbildung verhindert wird. Durch diese Verminderung

25 der Ceramidfreisetzung wird die Plattformbildung innerhalb der Zellmembran verhindert, so daß es nicht zu einer Infektion der Zelle kommt.

Als besonders vorteilhaft haben sich die Antidepressiva Amitryptilin und

30 Imipramin erwiesen. Diese Antidepressiva sind daher für die erfindungsgemäße Verwendung besonders bevorzugt. Hierbei handelt es sich um bekannte pharmakologische Wirkstoffe (Generika), die im wesentlichen

keine Nebenwirkungen entfalten. Für die erfindungsgemäße Verwendung können diese Wirkstoffe in üblichen Darreichungsformen eingesetzt werden, insbesondere oral, intravenös, intramuskulär, topisch oder auch durch Inhalation. Weiterhin sind übliche Dosierungen für die erfindungsgemäße Verwendung geeignet. Allerdings kann der erfindungsgemäße Effekt auch mit reduzierten Dosierungen erreicht werden.

Desweiteren umfaßt die Erfindung die Verwendung von Hemmstoffen, die von trizyklischen und/oder tetrazyklischen Antidepressiva, insbesondere von Amitryptilin und/oder Imipramin, abgeleitet sind. Diese abgeleiteten Wirkstoffe weisen im wesentlichen die gleichen Effekte wie die Antidepressiva auf, können jedoch weitere vorteilhafte Eigenschaften besitzen. Vorteilhafterweise können diese Substanzen derart modifiziert sein, daß sie hydrophiler als die Ausgangssubstanzen sind. Dies bewirkt, daß die modifizierten Substanzen in geringerem Umfang im Gehirn angereichert werden, als es beispielsweise die Substanzen Amitryptilin und Imipramin tun. Bei diesen beiden genannten Substanzen kann eine Anreicherung im Gehirn nach einigen Wochen nachgewiesen werden. Weitere vorteilhafte Eigenschaften von abgeleiteten Stoffen können eine bessere Stabilität und/oder Bioverfügbarkeit sein.

Neben den genannten Hemmstoffen können beispielsweise auch Desipramin und/oder FGF (Fibroblast growth factor) oder hiervon abgeleitete Substanzen als Hemmstoffe der sauren Sphingomyelinase mit Vorteil verwendet werden.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung handelt es sich bei den Hemmstoffen um Antikörper, insbesondere um neutralisierende Antikörper. Diese Antikörper können sehr spezifisch mit dem Enzym saure Sphingomyelinase oder dessen Reaktionsprodukten, also insbesondere mit Ceramid, wechselwirken. Hierdurch wird die Aktivität des Enzyms bzw. die biologische Wirkung des Reaktionsproduktes be-

einträchtig und vorzugsweise gehemmt. Für die erfindungsgemäße Verwendung ist der Einsatz von Antikörpern als Hemmstoff sehr geeignet, da die Antikörper zum einen sehr spezifisch sind und Nebenwirkungen im allgemeinen vermieden werden. Als Antikörper für diese erfindungsgemäße Verwendung sind polyklonale und wegen ihrer besonderen Spezifität in bevorzugter Weise monoklonale Antikörper geeignet. Diese Antikörper können unterschiedlichen Ursprungs sein, besonders bevorzugt sind humanisierte Antikörper. Unter humanisierten Antikörpern sind Antikörper gegen ein bestimmtes Antigen zu verstehen, die beispielsweise in Mäusen generiert werden. Durch Umklonierung muriner Sequenzen in humane Sequenzen wird ein Hybrid-Molekül erhalten, bei welchem alle murinen Teile (außer der variablen Domäne) durch humane Sequenzen ersetzt sind. Damit ist der resultierende Antikörper mit großer Sicherheit beim Menschen einsetzbar.

15

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung werden Stoffe eingesetzt, die die Bildung ceramidreicher Membranplattformen beeinflussen und insbesondere stören bzw. hemmen. Hierdurch wird die Bildung von Rafts, die eine Infektion vermitteln, behindert oder es werden bereits bestehende Rafts zerstört. In dieser Ausführungsform der Erfindung sind insbesondere β -Cyclodextrin, Nystatin und/oder Filipin bzw. davon abgeleitete Substanzen bevorzugt.

20

Bei der Prophylaxe und/oder Therapie von Infektionskrankheiten bzw. von Krankheiten, deren Verlauf durch Infektionen beeinflusst wird, kann es unter Umständen vorteilhaft sein, verschiedene der erfindungsgemäßen Wirkstoffe miteinander zu kombinieren.

25

Ein besonderer Vorteil der Erfindung ist, daß sich die Angriffspunkte der Wirkstoffe (Hemmstoffe), also insbesondere die saure Sphingomyelinase bzw. Ceramid, an der Zelloberfläche befinden. Diese Targets sind daher für die Wirkstoffe gut erreichbar, ohne daß es notwendig wäre,

30

daß die Wirkstoffe in die Zellen hineintransportiert werden müßten. Dies könnte insbesondere bei größeren Wirkstoffen wie beispielsweise Antikörpern ein Problem darstellen, welches sich vorteilhafterweise bei der erfindungsgemäßen Verwendung nicht stellt.

5

Bei den Infektionskrankheiten, die mit der erfindungsgemäßen Verwendung vorbeugend oder therapeutisch behandelt werden können, handelt es sich u. a. um virale, parasitäre und/oder mykologische Infektionskrankheiten. Weiterhin können auch Infektionskrankheiten behandelt werden, die durch Protozoen verursacht werden. Beispiele für derartige Infektionskrankheiten sind Aids, Hepatitis A, rhinovirale Erkrankungen, Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME), Röteln, Influenza und/oder Malaria. Weiterhin können auch bakterielle Infektionserkrankungen mit der erfindungsgemäßen Verwendung erfolgreich prophylaktisch und/oder therapeutisch behandelt werden. Beispiele für derartige Erkrankungen sind Tuberkulose, Meningokokken-Infektionen oder *Pseudomonas aeruginosa*-Infektionen, insbesondere bei zystischer Fibrose. Weiterhin kann die erfindungsgemäße Verwendung auch mit Vorteil im veterinärmedizinischen Bereich eingesetzt werden. Bei den hier zu behandelnden Infektionskrankheiten handelt es sich beispielsweise um Rinder- und/oder Schweinepest.

Weiterhin umfaßt die Erfindung eine Verwendung von Hemmstoffen der sauren Sphingomyelinase und/oder von Hemmstoffen von Produkten der durch dieses Enzym katalysierten Reaktion, insbesondere von Ceramid, zur Herstellung eines Medikaments zur Prophylaxe und/oder Therapie von Infektionskrankheiten bzw. von Krankheiten, deren Verlauf durch Infektionen beeinflusst wird. Bezüglich weiterer Merkmale dieser erfindungsgemäßen Verwendung wird auf die obige Beschreibung verwiesen.

Die Erfindung umfaßt ferner eine pharmazeutische Zusammensetzung, die mindestens einen Wirkstoff gemäß der erfindungsgemäßen Verwendung enthält, der ein von trizyklischen und/oder tetrazyklischen Antidepressiva, insbesondere ein von Amitryptilin und/oder Imipramin, abgeleiteter Stoff ist. Außerdem umfasst die Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die mindestens eine wirksame Menge von Desipramin, FGF, β -Cyclodextrin, Nystatin und/oder Filipin und/oder mindestens einen davon abgeleiteten Stoff enthält. Weiterhin umfaßt die Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die mindestens einen Antikörper, insbesondere einen neutralisierenden Antikörper enthält, der gegen saure Sphingomyelinase gerichtet ist. Darüber hinaus umfaßt die Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die mindestens einen gegen Ceramid gerichteten Antikörper, insbesondere einen neutralisierenden Antikörper, enthält. Diese pharmazeutischen Zusammensetzungen umfassen außerdem jeweils mindestens einen pharmazeutischen Träger. Für die Herstellung dieser pharmazeutischen Zusammensetzungen bzw. entsprechende Medikamente können übliche Methoden eingesetzt werden. Als Darreichungsformen sind beispielsweise Tabletten, Zäpfchen, Injektionslösungen oder Infusionslösungen geeignet.

Die Erfindung umfaßt darüber hinaus ein Verfahren zur Hemmung von Infektionen eukaryotischer Zellen, insbesondere von Säugerzellen, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß die saure Sphingomyelinase und/oder Produkte der durch dieses Enzym katalysierten Reaktion in ihrer Aktivität beeinflusst, insbesondere gehemmt, werden. Dieses Verfahren kann in vivo im intakten Organismus oder auch in kultivierten Systemen, beispielsweise in Zellkulturen oder Gewebekulturen, durchgeführt werden. Bezüglich weiterer Merkmale dieses Verfahrens wird auf die obige Beschreibung verwiesen.

Schließlich umfaßt die Erfindung die Behandlung von Infektionskrankheiten und/oder von Krankheiten, deren Verlauf von Infektionen beeinflusst wird, wobei Hemmstoffe verabreicht werden, die das Enzym saure Sphingomyelinase und/oder Produkte der von diesem Enzym katalysierten Reaktion, insbesondere Ceramid, beeinflussen, vorzugsweise hemmen. Diese Behandlung erfolgt prophylaktisch und/oder während oder nach einer erfolgten Infektion. Eine vorbeugende Behandlung kann bei allgemeiner Infektionsgefahr oder bevorzugterweise bei einer akuten Infektionsgefahr durchgeführt werden. Bezüglich weiterer Merkmale dieser erfindungsgemäßen Behandlung wird auf die obige Beschreibung verwiesen.

Die genannten Merkmale und weitere Merkmale der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung von Beispielen in Verbindung mit den Unteransprüchen und den Figuren. Hierbei können die einzelnen Merkmale jeweils für sich oder zu mehreren in Kombination miteinander verwirklicht sein.

In den Abbildungen zeigen:

- 20 Fig. 1: Die saure Sphingomyelinase (ASM) wird durch Infektion mit Rhinoviren aktiviert.
- Fig. 2: Rhinoviren induzieren Ceramidfreisetzung.
- Fig. 3: Amitryptilin und Imipramin hemmen dosisabhängig die
25 Infektion menschlicher Zellen mit Rhinoviren.
- Fig. 4: Die zytotoxische Wirkung von Rhinoviren wird durch Amitryptilin bzw. Imipramin gehemmt.
- 30 Fig. 5: HIV gp120 induziert die Freisetzung von Ceramid in humanen T-Lymphozyten.

Fig. 6: Zelluläre Stimulation mit gp120 induziert ceramidreiche Membranplattformen.

Beispiele

5

1. Infektion mit Rhinoviren

Die Ergebnisse der Versuche mit Rhinoviren zeigen, dass die Infektion humaner Epithelzellen mit verschiedenen Rhinoviren (HRV Stamm 14 und 16) zu einer Aktivierung der sauren Sphingomyelinase (Fig. 1) und zu einer Freisetzung von Ceramid (Fig. 2) führt.

- 15 a) Eine Infektion menschlicher Epithelzellen (Hela oder humane ex vivo Epithelzellen) aktiviert innerhalb von 10 bis 15 min. die saure Sphingomyelinase (ASM) um das Drei- bis Vierfache. Dies wurde am Beispiel von Hela-Zellen gezeigt. Die Ergebnisse sind in Fig. 1 zusammengefaßt. Die Zellen wurden mit Rhinoviren (Stamm 14, MOI von 25) infiziert und die Aktivität der Sphingomyelinase in Zel-
- 20 lysaten gemessen. Dazu wurden die Zellen nach der Infektion gewaschen, in 250 mM Natriumacetat (pH 5,0), 1,3 mM EDTA und 0,05 % NP40 aufgenommen, durch Ultraschallbehandlung mit einem Stabsonicator bei niedriger Energie aufgebrochen und mit [^{14}C]Sphingomyelin (0,5 $\mu\text{Ci}/\text{Probe}$, 54,5 mCi/mmol; NEN) für 30 min. inkubiert. Der in vitro Enzymassay wurde durch Zugabe von
- 25 800 μl einer 2:1-Mischung aus CHCl_3 und CH_3OH (v/v) sowie 200 μl H_2O abgebrochen und die Freisetzung von [^{14}C]Phosphorylcholin in den wäßrigen Überstand durch organische Extraktion szintigraphisch gemessen. Gezeigt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von drei Experimenten. Eine Vorinkubation der
- 30 Zellen mit einem Hemmstoff der sauren Sphingomyelinase, i.e. Amitryptilin, blockiert die Aktivität der sauren Sphingomyelinase.

- b) Die Stimulierung der sauren Sphingomyelinase korreliert mit einer Freisetzung von Ceramid aus den infizierten Zellen. Dies ist in Fig. 2 dargestellt. Eine Infektion humaner Epithelzellen (Hela) führt innerhalb weniger Minuten nach Infektion zu einer Freisetzung von Ceramid. Hierfür wurden wiederum Hela-Zellen mit Rhinoviren (Stamm 14) infiziert. Die Messung von Ceramid erfolgte durch einen Diacylglycerol (DAG)-Kinase Assay (Grassmé et al., Cell 91, 605-615, 1997). Ceramid wurde durch Zugabe von DAG-Kinase und [^{32}P] γ ATP zu [^{32}P]-Ceramid umgebaut. Das phosphorylierte Ceramid wurde dünnschichtchromatographisch aufgetrennt und szintigraphisch bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von drei Experimenten. Eine Vorinkubation der Zellen mit Amitryptilin hebt die Freisetzung von Ceramid auf.
- c) Die Infektion menschlicher Epithelzellen mit Rhinoviren induziert die Bildung ceramidreicher Membranplattformen. Sowohl die saure Sphingomyelinase als auch Ceramid sind auf der Oberfläche in Membranplattformen, an die auch die Rhinoviren binden, nach einer Infektion zu finden. Als experimenteller Nachweis hierfür wurden humane nasale Epithelzellen mit Rhinovirusstamm 14 über 20 min. infiziert, fixiert und mit Cy3-markierten monoklonalen Anti-Ceramid-Antikörpern (Alexis) gefärbt. Im Konfokalmikroskop zeigte sich kurze Zeit nach der Infektion die Bildung einer ceramidreichen Membranplattform. Nicht infizierte Zellen zeigten kein Ceramid auf der Zelloberfläche.
- d) Eine pharmakologische Hemmung der sauren Sphingomyelinase blockiert die Infektion menschlicher Epithelzellen durch Rhinoviren dosisabhängig bis zu einer fast vollständigen Hemmung der Infektion. Als Pharmaka wurden die Pharmaka (Antidepressiva) Imipramin und Amitryptilin, die in Kontrollexperimenten innerhalb von 20 min. bis zu 98 % der Aktivität der sauren Sphingomyelina-

se blockieren, verwendet. Die Infektion menschlicher Epithelzellen durch Rhinoviren wurde in durchflußzytometrischen Analysen des zytopathischen Effektes der Viren gemessen. Da Rhinoviren in diesen Zellen Zelltod induzieren, kann der Zelltod als Maß für eine Infektion der Zellen verwendet werden. Die Dosiswirkungskurve der Hemmung der Infektion menschlicher Epithelzellen durch Imipramin und Amitryptilin ist in Fig. 3 dargestellt. Hierfür wurden humane Hela-Epithelzellen mit dem Rhinovirus-Stamm 14 für 24 h infiziert und die zytotoxische Wirkung der Viren durchflußzytometrisch nach Färbung mit FITC-Annexin gemessen. Amitryptilin bzw. Imipramin, die die saure Sphingomyelinase hemmen, wurden 30 min. vor Infektion der Rhinoviren in einem serumfreien Medium zu den Zellen gegeben. Die Daten zeigen, daß die Pharmaka die virale Infektion fast vollständig hemmen. Amitryptilin und Imipramin hatten selbst keine zytotoxische Wirkung auf die Zellen. Gezeigt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung von drei Experimenten.

- e) Die zytotoxische Wirkung von Rhinoviren wird durch Amitryptilin bzw. Imipramin gehemmt. Fig. 4 zeigt die repräsentative durchflußzytometrische Analyse der Hemmung der Infektion von Hela-Zellen durch Rhinoviren nach Behandlung mit Amitryptilin. Hierfür wurden humane Hela-Epithelzellen mit verschiedenen Rhinovirus-Stämmen (RV14, RV16) 24 h infiziert. Die Infektion wurde anhand der zytotoxischen Wirkung der Viren gemessen und durch Färbung der Zellen mit FITC-Annexin in einem Durchflußzytometer bestimmt. Eine Rechtsverschiebung der Kurve bedeutet einen Anstieg der FITC-Annexinbindung und ist damit ein Maß für Zelltod. Amitryptilin bzw. Imipramin als Hemmstoffe der sauren Sphingomyelinase wurden 30 min. vor Infektion mit den Rhinoviren zu den Zellen in einem serumfreien Medium zugegeben. Die Daten zeigen, daß die Pharmaka die virale Infektion fast vollständig hem-

men. Gezeigt ist die Wirkung von Amitryptilin, analoge Daten wurden für Imipramin erhoben. Die linke Darstellung in Fig. 4 zeigt den Effekt ohne Wirkstoffzugabe, die rechte Darstellung den Effekt mit Wirkstoffzugabe.

5

- f) Durch eine Behandlung von Hela-Zellen mit anti-Ceramid-Antikörpern wird eine Infektion der Zellen mit Rhinoviren nahezu vollständig gehemmt. Für entsprechende Versuche wurden anti-Ceramid-Antikörper (Fa. Alexis) in einer Konzentration von 5 ng/ml mit den Viren (Rhinovirus-Stämme 2, 14 und 16) zu den Zellen gegeben. Die Infektion der Zellen mit den Rhinoviren wurde um etwa 95% gehemmt.

10

2. Infektion mit HIV

15

HIV infiziert humane Zellen im wesentlichen durch die Bindung des gp120 Moleküles des Virus an den CD4-Rezeptor. Ohne die Bindung von gp120 an CD4 kommt es nur zu einer ineffizienten Infektion von Zellen mit HIV. Das gp120 Molekül bildet mit dem gp41 Molekül einen oligomeren Komplex, in dem gp120 als Trimer vorliegt. Die Bindung von gp120 an das CD4-Molekül auf T-Lymphozyten verändert die Konformation von gp120, insbesondere kommt es zu einer Veränderung der Konformation des variablen Loops, wodurch die sog. Co-Rezeptor-Bindungsstelle freigelegt wird. Über diese Bindungsstelle bindet gp120 an einen Co-Rezeptor, meist die Zytokinrezeptoren CCR5 oder CXCR4. Insgesamt wurden mehr als 14 verschiedene Co-Rezeptoren identifiziert, von grosser in vivo Bedeutung scheinen aber nur CCR5 oder CXCR4 zu sein. Durch die Bindung von HIV an CD4 und weitere Co-Rezeptoren wird die Aufnahme des Virus in die Zelle initiiert (Clapham P.R., McKnight A. (2001). HIV-1 receptors and cell tropism. British Medical Bulletin 58: 43-59).

20

25

30

Das CD4-Molekül befindet sich bereits konstitutiv, d.h. auch in nicht infizierten Zellen, in Rafts. Nach der Infektion mit HIV kommt es zu einer Umverteilung von CD4 und zu einer Konzentration von CD4 in einem relativ kleinen Bereich der Zellmembran (Popik W., Alce T.M., Au W.C. (2002). Human Immunodeficiency Virus Type 1 uses lipid raft-colocalized CD4 and chemokine receptors for productive entry into CD4+T cells. J. of Virology 76: 4709-4722). Dieses Phänomen einer lokalen, sehr hohen Anreicherung eines Moleküles bezeichnet man als Clustering bzw. Aggregation. CD4 ko-lokalisiert nach Infektion in diesen Clustern mit GM1, einem typische Marker für Rafts, und auch CCR5 und CXCR4, die nach Stimulation in die neu gebildeten Membranplattformen rekrutiert werden. Werden Rafts durch Vorinkubation der Zellen mit Reagenzien, die Colesterol extrahieren, zerstört, wurde in diesen Studien sowohl das Aggregieren von CD4 nach Infektion als auch die Infektion der T-Zellen selbst verhindert. Die Bindung des Virus an CD4 war dagegen nicht verändert. Dies zeigt bereits, dass Membranrafts eine herausragende Rolle bei der Infektion humaner Zellen mit HIV spielen. Die Mechanismen, die die Fusion vieler kleiner Rafts zu grossen Membranplattformen, die dem Aggregieren von CD4 sowie der Rekrutierung von Co-Rezeptoren dienen, und letztlich die Infektion zu vermitteln scheinen, waren jedoch bislang unbekannt.

Die folgenden Ergebnisse zeigen anhand einer Stimulation humaner T-Lymphozyten mit rekombinantem gp120, das HIV ceramidreiche Membranplattformen benutzt, um humane Zellen zu infizieren.

- a) Innerhalb weniger Minuten induziert gp 120 die Freisetzung von Ceramid in humanen T-Lymphozyten. Fig. 5 zeigt die Behandlung humaner CD4-positiver Lymphozyten mit 10 µg/ml rekombinantem gp120. Innerhalb von 1 Minute wird Ceramid freigesetzt. Ceramid wurde mit einem DAG-Kinase Assay bestimmt.

- b) Die Freisetzung von Ceramid aus humanen T-Lymphozyten nach Stimulation mit gp120 korreliert mit der Bildung ceramidreicher Membranplattformen in der Zellmembran stimulierter Zellen, in denen das CD4-Molekül ko-lokalisiert und Cluster bildet. Fig. 6 zeigt, dass die zelluläre Stimulation mit gp 120 ceramidreiche Membranplattformen induziert. Die Stimulation humaner CD4-positiver T-Zellen mit gp120 (10 µg/ml) führt innerhalb von 2 Minuten zur Bildung ceramidreicher Membranplattformen. Die Bildung ceramidreicher Membranplattformen wurde nach Markierung der Zellen mit einem Cy3-markierten anti-Ceramid-Antikörper mittels Fluoreszenzmikroskopie bestimmt. In diesen ceramidreichen Membranplattformen aggregiert CD4, das mit einem FITC-markierten Antikörper dargestellt wurde. Quantitative Analysen der Bildung ceramidreicher Membranplattformen zeigen, dass $50 \pm 7\%$ aller CD4-positiven T-Lymphozyten 5 Min nach Stimulation mit gp120 eine ceramidreiche Membranplattform aufweisen.

3. Infektion mit *Pseudomonas aeruginosa*

- Die Bedeutung ceramidreicher Membranplattformen für Infektionen mit pathogenen Bakterien und Viren wurde am Beispiel der Infektion mammalischer Zellen mit *Pseudomonas aeruginosa* gezeigt. Die Aktivierung der sauren Sphingomyelinase und die Freisetzung von Ceramid wurden sowohl in vitro nach Infektion von Chang-Epithelzellen, WI-38 Fibroblasten, ex-vivo Lungenfibroblasten, ex-vivo kultivierten Tracheal-Epithelzellen als auch in vivo in Epithelzellen der Trachea nach Infektion mit *P. aeruginosa* beobachtet. Die Freisetzung von Ceramid nach Infektion erfolgt in Rafts, die durch das freigesetzte Ceramid zu grossen Membranplattformen umorganisiert werden. Das freigesetzte Ceramid und die saure Sphingomyelinase lokalisieren in den neu gebildeten Membranplattformen nach Infektion mit *P. aeruginosa*.

Die Bedeutung der sauren Sphingomyelinase für die Bildung von Membranplattformen nach *P. aeruginosa* Infektion zeigt sich an dem völligen Fehlen ceramidreicher Membranplattformen nach Infektion von saure Sphingomyelinase-defizienten Zellen. Die Rolle ceramidreicher Membranplattformen für die Infektion mit *P. aeruginosa* wurde in saure Sphingomyelinase-defizienten Zellen bzw. durch Zerstörung von Rafts mit Pharmaka, die mit dem Cholesterol-Stoffwechsel interferieren, untersucht. Bei diesen Pharmaka handelt es sich um β -Cyclodextrin, Nystatin und Filipin. Der Entzug von Cholesterol aus Membranrafts führt zu einem Kollaps von Rafts. In vivo wurden Rafts in der Lunge durch pulmonale Lavage mit β -Cyclodextrin, Nystatin und Filipin zerstört bzw. normale und saure Sphingomyelinase-defiziente Mäuse verwendet. Die Ergebnisse zeigen, dass ceramidreiche Membranplattformen die Internalisierung der Bakterien in Epithelzellen, den Tod infizierter Zellen und die Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine regulieren.

Die in vivo Bedeutung dieser Befunde wurde in Infektionsversuchen mit normalen und saure Sphingomyelinase-defizienten Mäusen gezeigt. Während normale Mäuse eine pulmonale Infektion mit *P. aeruginosa* innerhalb weniger Tage ausheilen, waren die saure Sphingomyelinase-defizienten Mäuse sehr empfindlich gegenüber einer pulmonalen *P. aeruginosa* Infektion und verstarben innerhalb weniger Tage nach Infektionsbeginn an einer Sepsis.

25

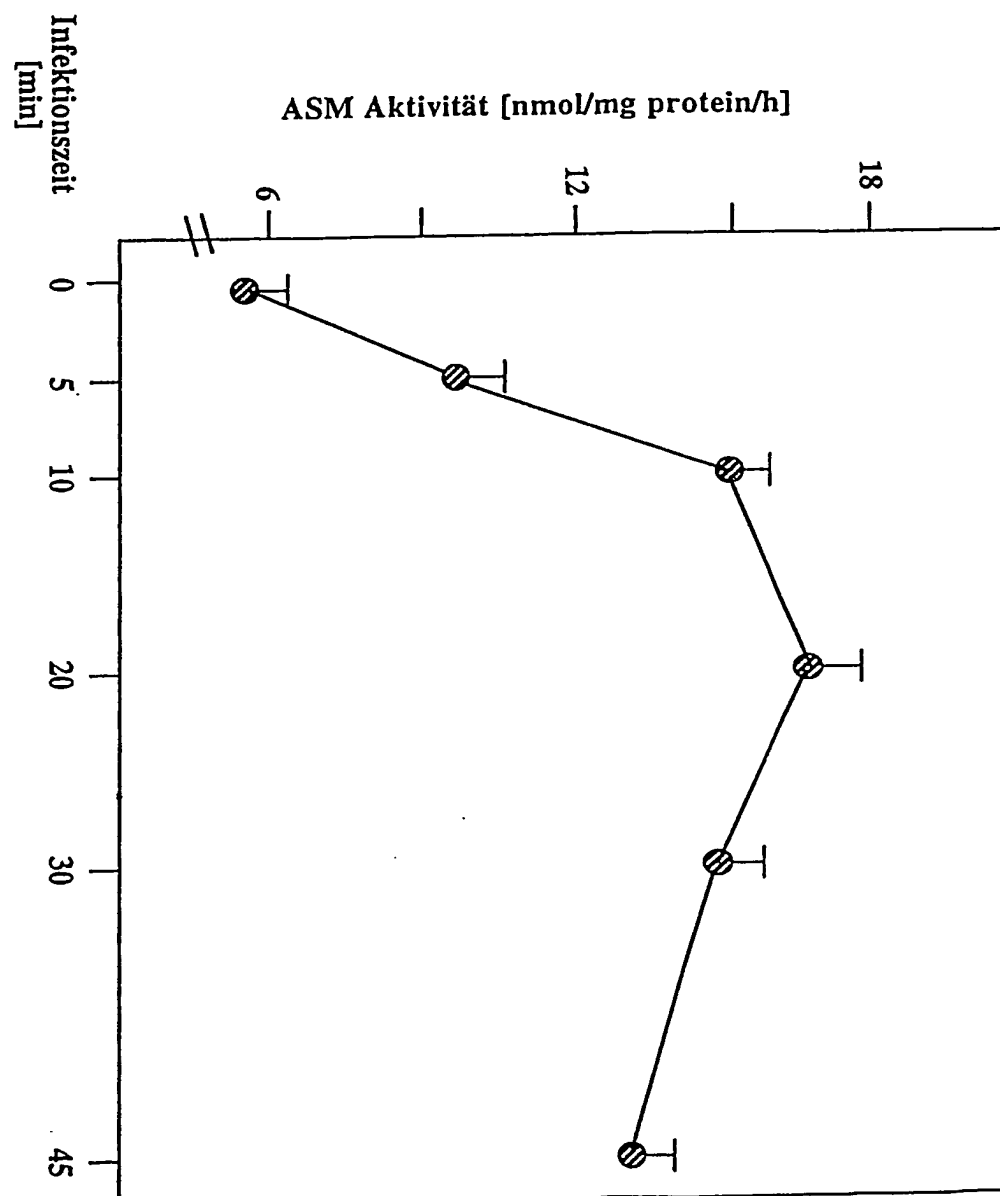
30

Patentansprüche

1. Verwendung von Hemmstoffen der sauren Sphingomyelinase und/
oder von Hemmstoffen von Produkten der durch dieses Enzym
5 katalysierten Reaktion, insbesondere von Ceramid, zur Prophylaxe und/oder Therapie von Infektionskrankheiten und/oder Krankheiten, deren Verlauf durch Infektionen beeinflusst wird.
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die
10 Hemmstoffe Antidepressiva, insbesondere trizyklische und/oder tetrazyklische Antidepressiva sind.
3. Verwendung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die
Antidepressiva Amitryptilin und/oder Imipramin sind.
- 15 4. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Hemmstoffe von trizyklischen und/oder tetrazyklischen Antidepressiva, insbesondere von Amitryptilin und/oder Imipramin, abgeleitete Stoffe sind.
- 20 5. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Hemmstoffe Desipramin und/oder FGF (Fibroblast growth factor) und/oder hiervon abgeleitete Stoffe sind.
- 25 6. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Hemmstoffe Antikörper, insbesondere neutralisierende Antikörper, sind.
- 30 7. Verwendung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Antikörper gegen die saure Sphingomyelinase gerichtet sind.

8. Verwendung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Antikörper gegen Ceramid gerichtet sind.
- 5 9. Verwendung von Stoffen, die die Bildung ceramidreicher Membranplattformen hemmen, zur Prophylaxe und/oder Therapie von Infektionskrankheiten und/oder Krankheiten, deren Verlauf durch Infektionen beeinflusst wird.
- 10 10. Verwendung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Stoffe β -Cyclodextrin, Nystatin und/oder Filipin und/oder hiervon abgeleitete Stoffe sind.
- 15 11. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Infektionskrankheiten virale, bakterielle, parasitäre und/oder mykologische Infektionskrankheiten sind.
- 20 12. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Infektionskrankheiten Aids, Hepatitis A, rhinovirale Erkrankungen, Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME), Röteln, Influenza, Tuberkulose, Meningokokken-Infektionen und/oder Malaria sind.
- 25 13. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Krankheit, deren Verlauf durch Infektionen beeinflusst wird, zystische Fibrose ist.
- 30 14. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Infektionskrankheiten Rinder- und/oder Schweinepest sind.

- 5 15. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend eine wirksame Menge mindestens eines von trizyklischen und/oder tetrazyklischen Antidepressiva, insbesondere von Amitryptilin und/oder Imipramin, abgeleiteten Stoffes sowie einen pharmazeutischen Träger.
- 10 16. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend eine wirksame Menge von Desipramin, FGF, β -Cyclodextrin, Nystatin und/oder Filipin und/oder mindestens eines davon abgeleiteten Stoffes sowie einen pharmazeutischen Träger.
- 15 17. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend eine wirksame Menge mindestens eines gegen saure Sphingomyelinase gerichteten Antikörpers, insbesondere neutralisierenden Antikörpers, sowie einen pharmazeutischen Träger.
- 20 18. Pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend eine wirksame Menge mindestens eines gegen Ceramid gerichteten Antikörpers, insbesondere neutralisierenden Antikörpers, sowie einen pharmazeutischen Träger.

Fig. 1

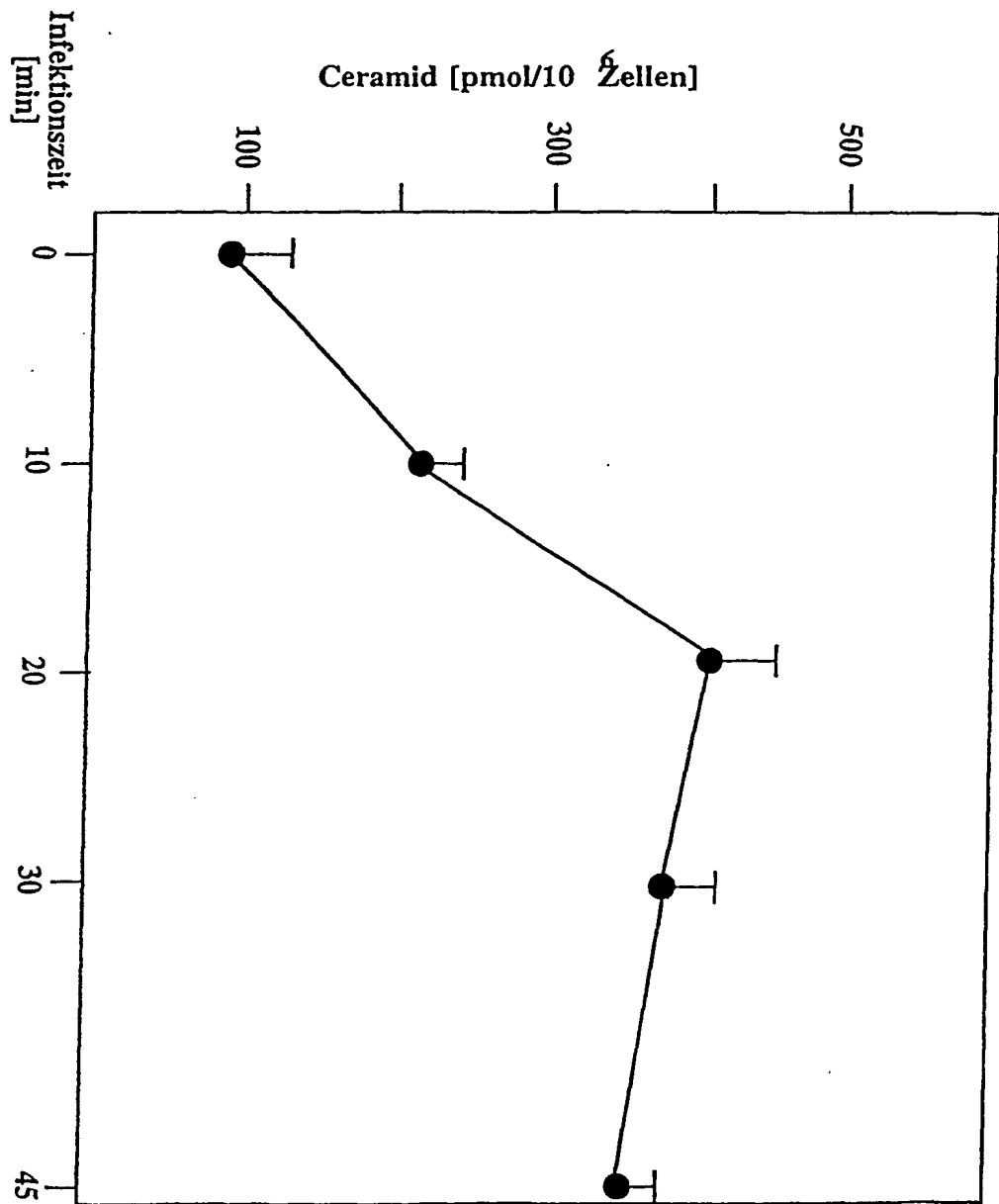


Fig. 2

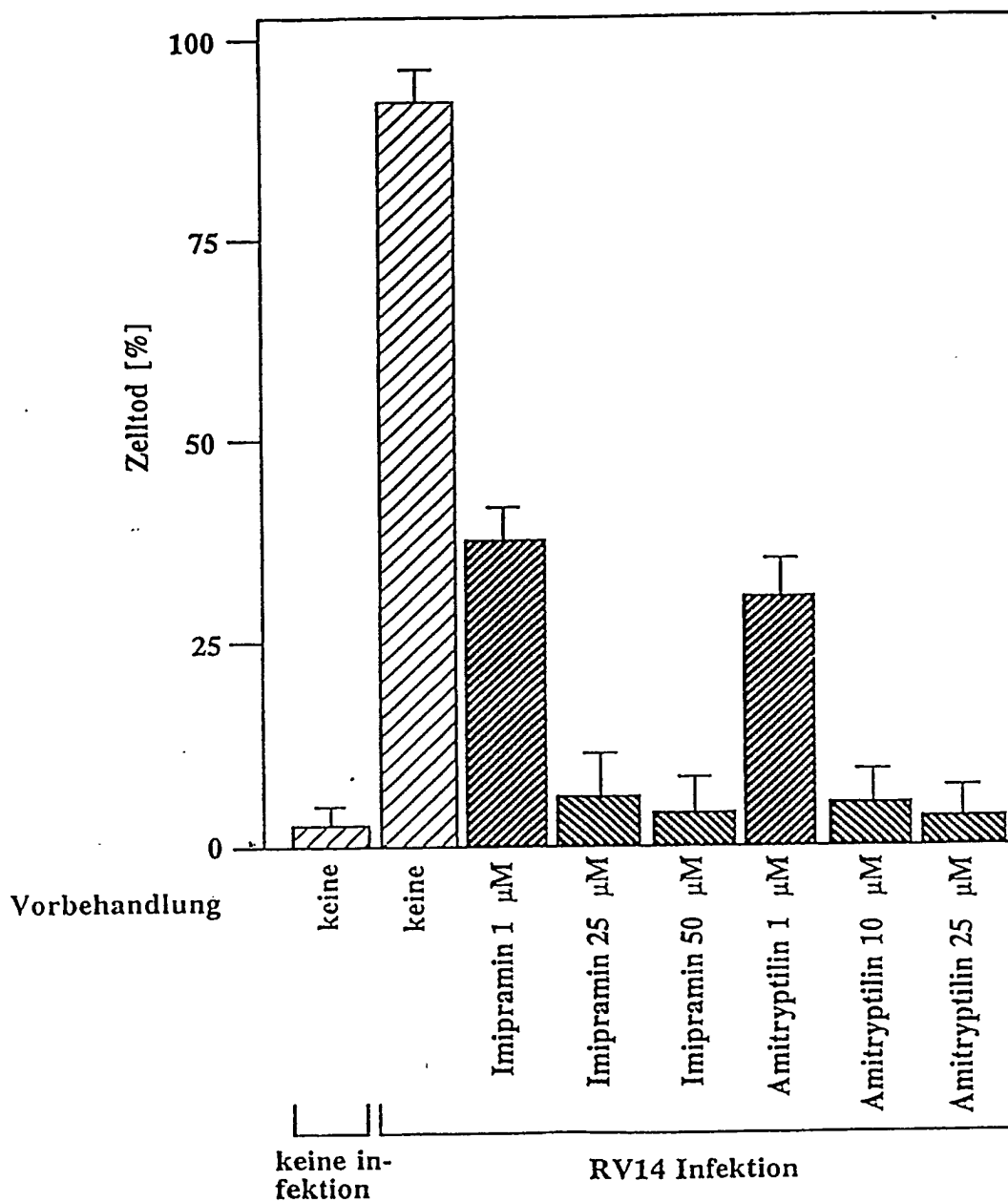


Fig. 3

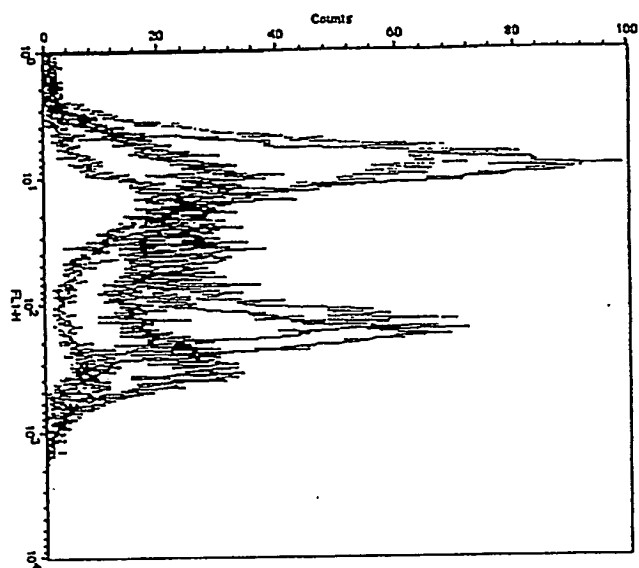
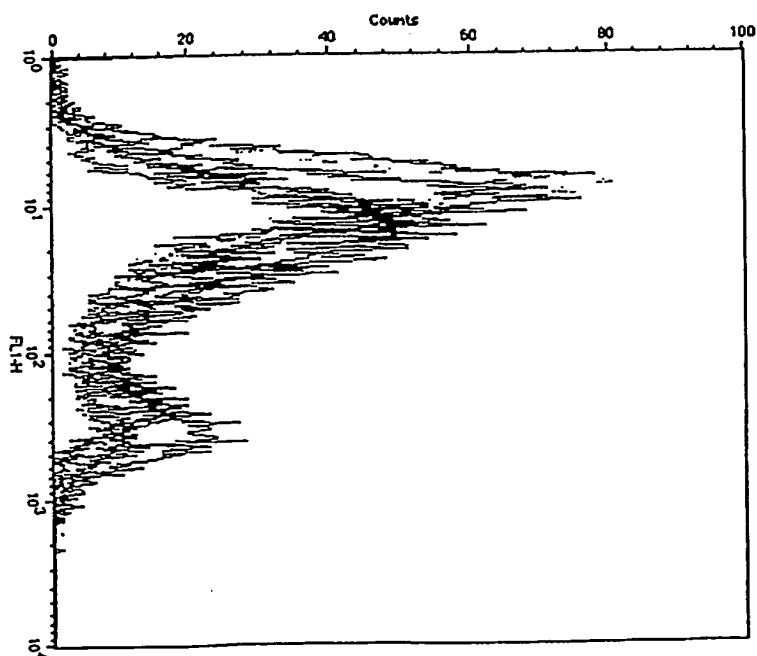


Fig. 4



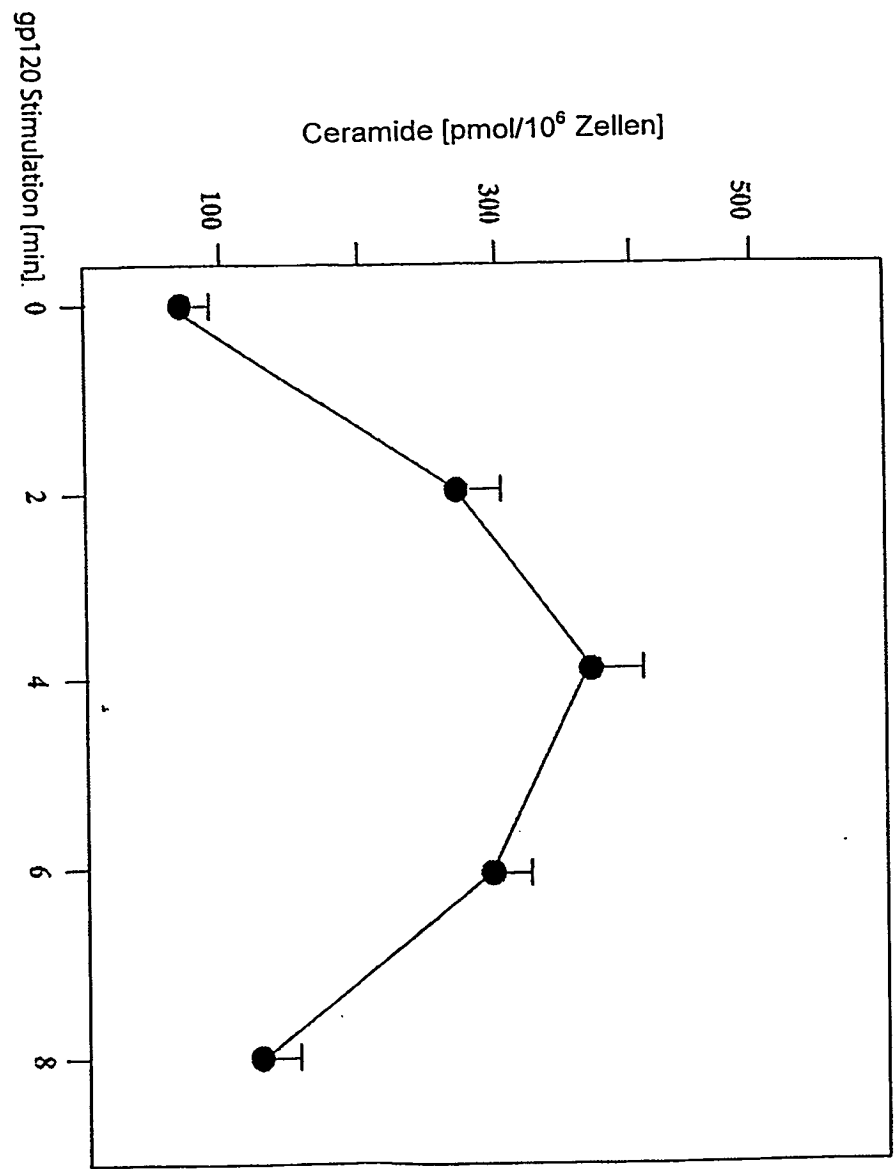


Fig. 5

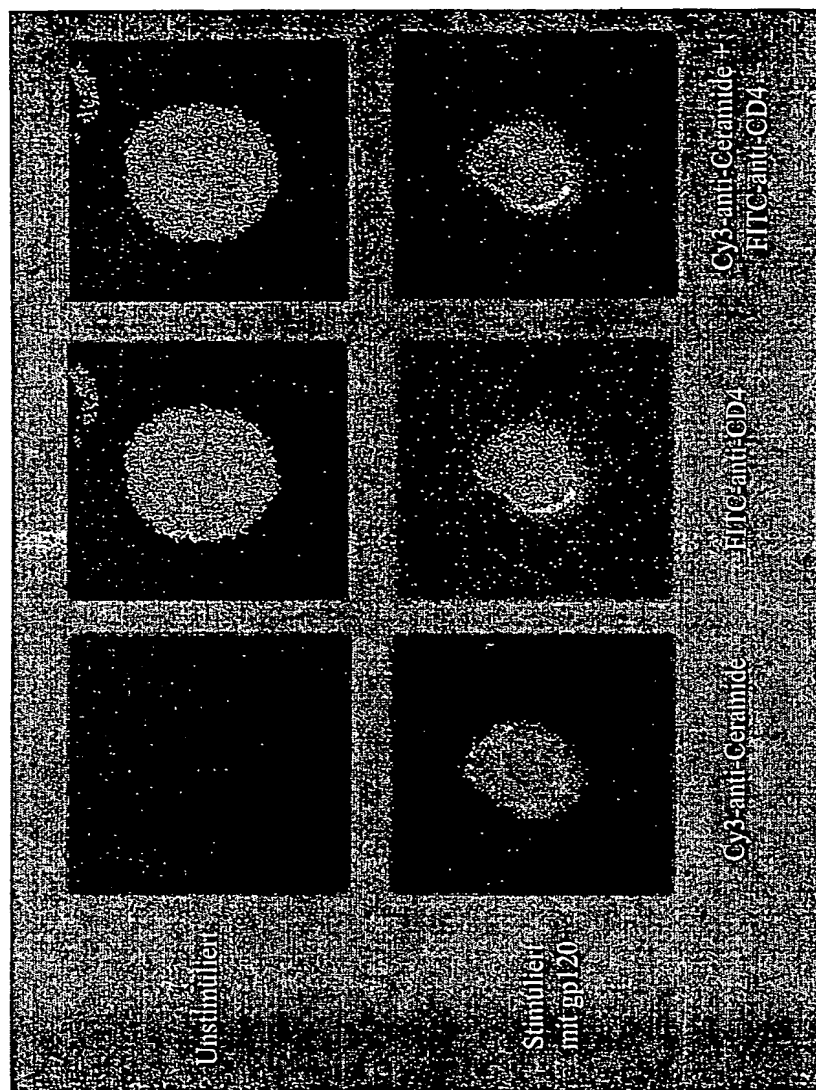


Fig. 6

Rec'd PCT/PTO 18 FEB 2005

10/524815

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
4. März 2004 (04.03.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/017949 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61K 31/55,
31/137, A61P 31/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/009254

(22) Internationales Anmeldedatum:
21. August 2003 (21.08.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 39 531.4 23. August 2002 (23.08.2002) DE

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: GULBINS, Erich [DE/DE]; Institut für
Molekularbiologie, Universität Essen, Hufelandstrasse 55,
45122 Essen (DE).

(74) Anwalt: RUFF, WILHELM, BEIER, DAUSTER &
PARTNER; Kronenstrasse 30, 70174 Stuttgart (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,

GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,
RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht
— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 29. April 2004

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: PROPHYLAXIS AND TREATMENT OF INFECTIOUS DISEASES

(54) Bezeichnung: PROPHYLAXE UND THERAPIE VON INFEKTIONSERKRANKUNGEN MIT AMITRYPTILIN ODER
IMIPRAMIN ODER DESIPRAMIN ODER FGF ODER EINEM ANTICERAMID ANTIKÖRPER ODER CYCLODEXTRIN
ODER NYSTATIN ODER FILIPIN

(57) Abstract: The invention relates to the use of inhibitors of acid sphingomyelinase and/or inhibitors of products of the reac-
tion catalysed by said enzyme, for the prophylaxis and/or treatment of infectious diseases and/or diseases which are influenced
by infections during the course thereof. The cited products especially include ceramide. Preferably neutralising antibodies and/or
anti-depressants, especially tricyclic and/or tetracyclic anti-depressants, are used as inhibitors.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft die Verwendung von Hemmstoffen der sauren Sphingomyelinase und/oder von
Hemmstoffen von Produkten der durch dieses Enzym katalysierten Reaktion zur Prophylaxe und/oder Therapie von Infektions-
krankheiten und/oder Krankheiten, deren Verlauf durch Infektionen beeinflusst wird. Bei den genannten Produkten handelt es sich
insbesondere um Ceramid. Als Hemmstoffe sind in besonderer Weise neutralisierende Antikörper und/oder Antidepressiva bevor-
zugt, insbesondere trizyklische und/oder tetrazyklische Antidepressiva.

WO 2004/017949 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/09254

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K31/55 A61K31/137 A61P31/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, MEDLINE, SCISEARCH, EMBASE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>CLAUS R ET AL: "Modulation of the ceramide level, a novel therapeutic concept?" CURRENT DRUG TARGETS. NETHERLANDS SEP 2000, vol. 1, no. 2, September 2000 (2000-09), pages 185-205, XP008023836 ISSN: 1389-4501 page 186 page 187, column 2, paragraph 2 ----- -/--</p>	1,11,12

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention.

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 November 2003

Date of mailing of the international search report

- 4 03. 2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bonzano, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/09254

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MUNOZ-BELLIDO J L ET AL: "ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PSYCHOTROPIC DRUGS SELECTIVE SEROTONIN REUPTAKE INHIBITORS" INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS, AMSTERDAM, NL, vol. 14, no. 3, April 2000 (2000-04), pages 177-180, XP001022171 ISSN: 0924-8579 page 177, column 1, paragraph 2 - column 2, paragraph 1 table 3	1-4,11, 12,15
X	----- KRISTIANSEN J E ET AL: "INHIBITION OF HIV REPLICATION BY NEUROLEPTIC AGENTS AND THEIR POTENTIAL USE IN HIV INFECTED PATIENTS WITH AIDS RELATED DEMENTIA" INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS, AMSTERDAM, NL, vol. 14, no. 3, 2000, pages 209-213, XP001056998 ISSN: 0924-8579 page 209, column 1, paragraph 1 table 1 page 211, column 1, paragraph 2	1-4,11, 12,15
X	----- DUTTA, PURABI ET AL: "Antimalarial properties of imipramine and amitriptyline" JOURNAL OF PROTOZOOLOGY (1990), 37(1), 54-8, XP008023929 page 57, column 2, paragraph 3	1-4,11, 12,15
A	----- LAUER, SABINE A. ET AL: "Sphingolipid synthesis as a target for chemotherapy against malaria parasites" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA (1995), 92(20), 9181-5, XP001172814 abstract page 9181, column 2, paragraph 4 - page 9182, column 1, paragraph 1	
X	----- HAUCK C R ET AL: "Acid sphingomyelinase is involved in CEACAM receptor-mediated phagocytosis of Neisseria gonorrhoeae" FEBS LETTERS, vol. 478, no. 3, 4 August 2000 (2000-08-04), pages 260-266, XP004337445 ISSN: 0014-5793 page 261, column 2, paragraph 4 page 262, column 2, paragraph 2 - page 263, column 1, paragraph 1 page 265, column 2, paragraph 3 ----- -/--	1-4,11, 12,15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/09254

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BAUMANN, NICOLE ET AL: "Effect of tricyclic antidepressants on lysosomal sphingomyelinase activit" NATO ASI SERIES, SERIES A: LIFE SCIENCES (1988), 150(LIPID STORAGE DISORD.), 627-34, XP008023933 table 2 -----	1-4,11, 12,14,15
A	ALBOUZ, S. ET AL: "Effect of tricyclic antidepressants on sphingomyelinase and other sphingolipid hydrolases in C6 cultured glioma cells" NEUROSCIENCE LETTERS (1983), 36(3), 311-15, XP008023932 abstract page 314, line 15 - line 27 -----	1-4,11, 12,14,15
X	WO 90/14089 A (RHONE POULENC SANTE) 29 November 1990 (1990-11-29) abstract -----	15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 03/09254

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 1-14 relate to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the compound or composition.
2. ☒ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

see supplemental sheet FURTHER INFORMATION PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see supplemental sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-4, 11, 12, 14-15 (partly)

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Continuation of Box I, 2

The current claims 1-18 concern compounds and diseases which appear unclear and too broadly worded (PCT Article 6): the definitions "inhibitors of products of the reaction catalysed by sphingomyelinase" and "diseases, the course of which is affected by infections" are ambiguous and unclear.

In the present case, the claims lack the proper support and the application lacks the requisite disclosure to such an extent that it appears possible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought.

The current claims 2 and 9 relate to a compound characterized by a desirable property or characteristic, namely anti-depressive activity and activity as inhibitor of the formation of ceramide-rich membrane platforms.

Therefore the claims encompass all compounds which display this characteristic or property, but the application provides support by the description (PCT Article 5) for only a limited number of such compounds.

In the present case, the claims lack the proper support and the application lacks the requisite disclosure to such an extent that it appears possible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought.

Moreover, the claims also lack the requisite clarity (PCT Article 6) since they attempt to define the compound by the pharmacological profile. This lack of clarity is also such that it renders a meaningful search covering the entire range of protection sought impossible.

The current claims 4-7 and 17 relate to a disproportionately large number of possible compounds and products (substances derived from tricyclic or tetracyclic anti-depressants; substances derived from desipramine or FGF; antibodies, neutralizing antibodies, antibodies against acid

sphingomyelinase), of which only a small portion are supported by the description (PCT Article 6) and can be considered disclosed in the application (PCT Article 5).

In the present case, the claims lack the proper support and the application lacks the requisite disclosure to such an extent that it appears possible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought.

Therefore the search was directed to the parts of the claims that appear to be clear, supported or disclosed in the above sense, namely the parts concerning the compounds in claims 3, 5 (only desipramine and FGF), 7, 8 and 10 for treating the diseases mentioned in claims 12-14.

The applicant is advised that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established normally need not be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II. After entry into the regional phase before the EPO, however, an additional search can be carried out in the course of the examination (cf. EPO Guidelines, Part C, VI, 8.5) if the deficiencies that led to the declaration under PCT Article 17(2) have been remedied.

The International Searching Authority has determined that this international application contains more than one invention or group of inventions, namely:

1. claims 1-4, 11, 12, 14-15 (in part)

use of amitriptyline or imipramine for treating infections as mentioned in claims 12 and 14, and their compositions;

2. claims 1, 2, 4, 5, 11, 12, 14 and 16 (in part)

use of desipramine for treating infections as mentioned in claims 12 and 14, and their compositions;

3. claims 1, 2, 4, 5, 11, 12, 14 and 16 (in part)

use of FGF for treating infections as mentioned in claims 12 and 14, and their compositions;

4. claims 1, 6-8, 11, 12, 14, 17, 18 (in part)

use of anticeramide antibodies for treating infections as mentioned in claims 12 and 14, and their compositions;

5. claims 9-12 and 14-16 (in part)

use of cyclodextrin for treating infections as mentioned in claims 12 and 14, and their compositions;

6. claims 9-12 and 14-16 (in part)

use of nystatin or filipin for treating infections as mentioned in claims 12 and 14, and their compositions;

7. claims 1-4 and 13 (in part)

use of amitriptyline or imipramine for treating the disease cystic fibrosis affected by infections;

8. claims 1, 2, 4, 5 and 13 (in part)

use of desipramine for treating the disease cystic fibrosis affected by infections;

9. claims 1, 2, 4, 5 and 13 (in part)

use of FGF for treating the disease cystic fibrosis affected by infections;

10. claims 1, 6-8 and 13 (in part)

use of anticeramide antibodies for treating the disease cystic fibrosis affected by infections;

11. claims 9-10 and 13 (in part)

use of cyclodextrin for treating the disease cystic fibrosis affected by infections;

12. claims 9-10 and 13 (in part)

use of nystatin or filipin for treating the disease cystic fibrosis affected by infections.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/09254

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9014089	A	29-11-1990	FR 2647343 A1 30-11-1990
		AT 98867 T 15-01-1994	
		AT 83663 T 15-01-1993	
		AU 623779 B2 21-05-1992	
		AU 5582890 A 10-01-1991	
		AU 631888 B2 10-12-1992	
		AU 5743390 A 18-12-1990	
		CA 2017355 A1 24-11-1990	
		CA 2017360 A1 24-11-1990	
		DD 297915 A5 30-01-1992	
		DE 69000641 D1 04-02-1993	
		DE 69000641 T2 09-06-1993	
		DE 69005359 D1 03-02-1994	
		DE 69005359 T2 05-05-1994	
		DK 399902 T3 14-02-1994	
		DK 399903 T3 08-02-1993	
		EP 0399902 A1 28-11-1990	
		EP 0399903 A1 28-11-1990	
		ES 2062437 T3 16-12-1994	
		ES 2054289 T3 01-08-1994	
		FI 103712 B1 31-08-1999	
		WO 9014089 A1 29-11-1990	
		GR 3006655 T3 30-06-1993	
		IE 64370 B1 26-07-1995	
		IE 63317 B1 05-04-1995	
		IL 94459 A 24-01-1995	
		JP 2948271 B2 13-09-1999	
		JP 3056412 A 12-03-1991	
		KR 163423 B1 01-12-1998	
		NO 902280 A ,B, 26-11-1990	
		NZ 233766 A 27-08-1991	
		NZ 233784 A 28-04-1993	
		PL 285327 A1 11-02-1991	
		PT 94138 A ,B 08-01-1991	
		PT 94139 A ,B 08-01-1991	
		US 5244881 A 14-09-1993	
		US 5206025 A 27-04-1993	
		YU 100790 A1 28-05-1992	
		ZA 9003895 A 27-03-1991	
		ZA 9003978 A 27-03-1991	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/09254

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61K31/55 A61K31/137 A61P31/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, MEDLINE, SCISEARCH, EMBASE, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	CLAUS R ET AL: "Modulation of the ceramide level, a novel therapeutic concept?" CURRENT DRUG TARGETS. NETHERLANDS SEP 2000, Bd. 1, Nr. 2, September 2000 (2000-09), Seiten 185-205, XP008023836 ISSN: 1389-4501 Seite 186 Seite 187, Spalte 2, Absatz 2 ----- -/-	1,11,12

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

24. November 2003

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

- 4. 03. 2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Bonzano, C

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/09254

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	MUNOZ-BELLIDO J L ET AL: "ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PSYCHOTROPIC DRUGS SELECTIVE SEROTONIN REUPTAKE INHIBITORS" INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS, AMSTERDAM, NL, Bd. 14, Nr. 3, April 2000 (2000-04), Seiten 177-180, XP001022171 ISSN: 0924-8579 Seite 177, Spalte 1, Absatz 2 - Spalte 2, Absatz 1 Tabelle 3	1-4,11, 12,15
X	KRISTIANSEN J E ET AL: "INHIBITION OF HIV REPLICATION BY NEUROLEPTIC AGENTS AND THEIR POTENTIAL USE IN HIV INFECTED PATIENTS WITH AIDS RELATED DEMENTIA" INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS, AMSTERDAM, NL, Bd. 14, Nr. 3, 2000, Seiten 209-213, XP001056998 ISSN: 0924-8579 Seite 209, Spalte 1, Absatz 1 Tabelle 1 Seite 211, Spalte 1, Absatz 2	1-4,11, 12,15
X	DUTTA, PURABI ET AL: "Antimalarial properties of imipramine and amitriptyline" JOURNAL OF PROTOZOOLOGY (1990), 37(1), 54-8, XP008023929 Seite 57, Spalte 2, Absatz 3	1-4,11, 12,15
A	LAUER, SABINE A. ET AL: "Sphingolipid synthesis as a target for chemotherapy against malaria parasites" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA (1995), 92(20), 9181-5, XP001172814 Zusammenfassung Seite 9181, Spalte 2, Absatz 4 - Seite 9182, Spalte 1, Absatz 1	
X	HAUCK C R ET AL: "Acid sphingomyelinase is involved in CEACAM receptor-mediated phagocytosis of Neisseria gonorrhoeae" FEBS LETTERS, Bd. 478, Nr. 3, 4. August 2000 (2000-08-04), Seiten 260-266, XP004337445 ISSN: 0014-5793 Seite 261, Spalte 2, Absatz 4 Seite 262, Spalte 2, Absatz 2 - Seite 263, Spalte 1, Absatz 1 Seite 265, Spalte 2, Absatz 3	1-4,11, 12,15
	-/--	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/09254

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>BAUMANN, NICOLE ET AL: "Effect of tricyclic antidepressants on lysosomal sphingomyelinase activit"</p> <p>NATO ASI SERIES, SERIES A: LIFE SCIENCES (1988), 150(LIPID STORAGE DISORD.), 627-34, XP008023933</p> <p>Tabelle 2</p>	1-4,11, 12,14,15
A	<p>ALBOUZ, S. ET AL: "Effect of tricyclic antidepressants on sphingomyelinase and other sphingolipid hydrolases in C6 cultured glioma cells"</p> <p>NEUROSCIENCE LETTERS (1983), 36(3), 311-15, XP008023932</p> <p>Zusammenfassung</p> <p>Seite 314, Zeile 15 - Zeile 27</p>	1-4,11, 12,14,15
X	<p>WO 90/14089 A (RHONE POULENC SANTE)</p> <p>29. November 1990 (1990-11-29)</p> <p>Zusammenfassung</p>	15

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 03/09254

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr. -
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl die Ansprüche 1-14 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. ☒ Ansprüche Nr. -
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Ansprüche Nr. -
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr. -
4. ☒ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:
1-4,11,12,14-15 (teilweise)

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld 1.2

Ansprüche Nr.: -

Die geltenden Patentansprüche 1-18 beziehen sich auf Verbindungen und Krankheiten, die im Sinne von Art. 6 PCT unklar und zu weitläufig gefasst erscheinen: die Definitionen "Hemmstoffen von Produkten der durch Sphingomyelinase katalysierten Reaktion", und "Krankheiten, deren Verlauf durch Infektionen beeinflusst wird" sind zweideutig und unklar.

Im vorliegenden Fall fehlen den Patentansprüchen die entsprechende Stütze bzw. der Patentanmeldung die nötige Offenbarung in einem solchen Maße, daß eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich erscheint.

Die geltenden Patentansprüche 2,9 beziehen sich auf eine Verbindung, jeweils charakterisiert durch eine erstrebenswerte Eigenheit oder Eigenschaft, nämlich die antidepressive Aktivität, und die Aktivität als Hemmenden der Bildung ceramidreicher Membranplattformen.

Die Patentansprüche umfassen daher alle Verbindungen, die diese Eigenheit oder Eigenschaft aufweisen, wohingegen die Patentanmeldung Stütze durch die Beschreibung im Sinne von Art. 5 PCT nur für eine begrenzte Zahl solcher Verbindungen liefert.

Im vorliegenden Fall fehlen den Patentansprüchen die entsprechende Stütze bzw. der Patentanmeldung die nötige Offenbarung in einem solchen Maße, daß eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich erscheint.

Desungeachtet fehlt den Patentansprüchen auch die in Art. 6 PCT geforderte Klarheit, nachdem in ihnen versucht wird, die Verbindung über das jeweils pharmakologische Profil zu definieren. Auch dieser Mangel an Klarheit ist dergestalt, daß er eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich macht.

Die geltenden Patentansprüche 4-7,17 beziehen sich auf eine unverhältnismäßig große Zahl möglicher Verbindungen und Produkte (von trizyklischen oder tetrazyklischen Antidepressiva abgeleitete Stoffe; von Desipramin oder FGF abgeleitete Stoffe; Antikörper, neutralisierende Antikörper, Antikörper gegen die saure Sphingomyelinase), von denen sich nur ein kleiner Anteil im Sinne von Art. 6 PCT auf die Beschreibung stützen und als im Sinne von Art.5 PCT in der Patentanmeldung offenbart gelten kann.

Im vorliegenden Fall fehlen den Patentansprüchen die entsprechende Stütze bzw. der Patentanmeldung die nötige Offenbarung in einem solchen Maße, daß eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Schutzbereich unmöglich erscheint.

Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche gerichtet, welche im o.a. Sinne als klar, gestützt oder offenbart erscheinen, nämlich die Teile betreffend die Verbindungen in Ansprüche 3,5 (nur Desipramin und FGF), 7,8,10 zur Behandlung der Krankheiten in Ansprüche 12-14 genannt.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, dass Patentansprüche auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit, der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, dass die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, dass der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäss Kapitel II PCT neue Patentanprüche vorlegt. Nach Eintritt in die regionale Phase vor dem EPA kann jedoch im Zuge der Prüfung eine weitere Recherche durchgeführt werden (Vgl. EPA-Richtlinien C-VI, 8.5), sollten die Mängel behoben sein, die zu der Erklärung gemäss Art. 17 (2) PCT geführt haben.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, dass diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-4,11,12,14-15 (teilweise)

Verwendung von Amitryptilin oder Imipramin zur Behandlung von Infektionen, wie in Ansprüche 12, 14 genannt, und deren Zusammensetzungen.

2. Ansprüche: 1,2,4,5,11,12,14,16 (teilweise)

Verwendung von Desipramin zur Behandlung von Infektionen, wie in Ansprüche 12, 14 genannt, und deren Zusammensetzungen.

3. Ansprüche: 1,2,4,5,11,12,14,16 (teilweise)

Verwendung von fgf zur Behandlung von Infektionen, wie in Ansprüche 12, 14 genannt, und deren Zusammensetzungen.

4. Ansprüche: 1,6-8,11,12,14,17,18 (teilweise)

Verwendung von anticeramide-Antikörper zur Behandlung von Infektionen, wie in Ansprüche 12, 14 genannt, und deren Zusammensetzungen.

5. Ansprüche: 9-12,14-16 (teilweise)

Verwendung von Cyclodextrin zur Behandlung von Infektionen, wie in Ansprüche 12, 14 genannt, und deren Zusammensetzungen.

6. Ansprüche: 9-12,14-16 (teilweise)

Verwendung von Nystatin oder Filipin zur Behandlung von Infektionen, wie in Ansprüche 12, 14 genannt, und deren Zusammensetzungen.

7. Ansprüche: 1-4,13 (teilweise)

Verwendung von Amitryptilin oder Imipramin zur Behandlung von der durch Infektionen beeinflussten Krankheit zystische Fibrose.

8. Ansprüche: 1,2,4,5,13 (teilweise)

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Verwendung von Desipramin zur Behandlung von der durch Infektionen beeinflussten Krankheit zystische Fibrose.

9. Ansprüche: 1,2,4,5,13 (teilweise)

Verwendung von fgf zur Behandlung von der durch Infektionen beeinflussten Krankheit zystische Fibrose.

10. Ansprüche: 1,6-8,13 (teilweise)

Verwendung von anticeramide Antikörper zur Behandlung von der durch Infektionen beeinflussten Krankheit zystische Fibrose.

11. Ansprüche: 9-10,13 (teilweise)

Verwendung von Cyclodextrin zur Behandlung von der durch Infektionen beeinflussten Krankheit zystische Fibrose.

12. Ansprüche: 9-10,13 (teilweise)

Verwendung von Nystatin oder Filipin zur Behandlung von der durch Infektionen beeinflussten Krankheit zystische Fibrose.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/09254

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9014089 A	29-11-1990	FR 2647343 A1	30-11-1990
		AT 98867 T	15-01-1994
		AT 83663 T	15-01-1993
		AU 623779 B2	21-05-1992
		AU 5582890 A	10-01-1991
		AU 631888 B2	10-12-1992
		AU 5743390 A	18-12-1990
		CA 2017355 A1	24-11-1990
		CA 2017360 A1	24-11-1990
		DD 297915 A5	30-01-1992
		DE 69000641 D1	04-02-1993
		DE 69000641 T2	09-06-1993
		DE 69005359 D1	03-02-1994
		DE 69005359 T2	05-05-1994
		DK 399902 T3	14-02-1994
		DK 399903 T3	08-02-1993
		EP 0399902 A1	28-11-1990
		EP 0399903 A1	28-11-1990
		ES 2062437 T3	16-12-1994
		ES 2054289 T3	01-08-1994
		FI 103712 B1	31-08-1999
		WO 9014089 A1	29-11-1990
		GR 3006655 T3	30-06-1993
		IE 64370 B1	26-07-1995
		IE 63317 B1	05-04-1995
		IL 94459 A	24-01-1995
		JP 2948271 B2	13-09-1999
		JP 3056412 A	12-03-1991
		KR 163423 B1	01-12-1998
		NO 902280 A ,B,	26-11-1990
		NZ 233766 A	27-08-1991
		NZ 233784 A	28-04-1993
		PL 285327 A1	11-02-1991
		PT 94138 A ,B	08-01-1991
		PT 94139 A ,B	08-01-1991
		US 5244881 A	14-09-1993
		US 5206025 A	27-04-1993
		YU 100790 A1	28-05-1992
		ZA 9003895 A	27-03-1991
		ZA 9003978 A	27-03-1991

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.